

VARIABILITÉ DE LA FRUCTIFICATION DU *PLEUROTUS ERYNGII* EN CULTURE

par R. CAILLEUX, A. DIOP, A.M. SLEZEC et P. JOLY*

RESUMÉ. — On observe en culture artificielle une variabilité du taux de fertilité des souches et de la morphologie de leurs basidiocarpes lorsqu'elles sont pleinement fertiles. Cette variabilité s'exprime, dans les deux cas, avec des amplitudes plus ou moins grandes selon les populations naturelles dont sont extraites les souches. En outre, le taux de fertilité observé chez un ensemble de souches n'est pas indépendant des modalités de leur isolement à partir de la population sauvage : il est plus faible chez celles issues de semis plurispore que chez celles provenant de bouturages, à la suite d'un accroissement des taux d'expressions d'un ou plusieurs types de blocages de la fructification. On ne peut pas rejeter l'hypothèse d'une intervention, à ce niveau, de recombinaisons méiotiques au cours de la formation des basidiospores mais, dans ce cas, la manifestation de blocage résulterait de processus plus complexes qu'une simple expression de phénotype monogénique récessif.

Étroitement inféodé au Panicaut (*Eryngium campestre* L.) sur les racines mortes duquel il développe ses fructifications, le *Pleurotus eryngii* (Fr. ex DC.) Quél. a, en Europe occidentale du moins, une aire de répartition qui recouvre sensiblement celle de son hôte, telle qu'elle a été précisée par TURMEL (1948). Vers le sud, il atteint l'Afrique du nord (Maroc, Algérie, Tunisie) où il accompagne pratiquement le Panicaut à sa limite méridionale extrême. Vers le nord, il remonte jusqu'aux Pays-Bas, mais sa limite d'extension reste là nettement en deçà de celle de son hôte qui s'étend au sud de la Grande-Bretagne et au Jutland.

Sa présence n'est toutefois pas uniforme dans cette aire, mais fragmentée en stations de dimensions assez restreintes, relativement stables dans l'espace et dans le temps et souvent isolées les unes des autres. Ce morcellement géogra-

* Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle, L. A. N° 257 (C.N.R.S.), 12 rue de Buffon, 75005 Paris.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE (*Cryptog. mycol.*) Tome I (1980).

phique est dû, en partie déjà, aux nombreuses discontinuités de l'aire du Panicaut qui découlent de ses exigences écologiques: c'est une plante de dunes fixées, de pelouses ou de côteaux secs, ne dépassant guère 1500m d'altitude dans nos régions. Ce morcellement est accru par le fait que, là où existent d'assez vastes étendues peuplées d'*E. campestre*, les stations du Pleurote restent localisées et séparées par des zones dans lesquelles les Panicauts demeurent indemnes.

Une telle disjonction en petites localités stables s'accompagne naturellement de différences plus ou moins importantes dans le déroulement des processus de fructification et dans les faciès des basidiocarpes, tant en milieu naturel qu'au sein de souches extraites des diverses populations et cultivées en conditions uniformisées. Maîtrisant bien, maintenant, le cycle complet et la reproductibilité des cultures de ce champignon (CAILLEUX et DIOP, 1976; 1978), il devenait possible d'étudier cette variabilité des comportements entre populations distinctes. Pour cela, nous avons disposé d'un ensemble de souches prélevées au sein de populations d'origines géographiques variées: Manche, Finistère, Vallée de la Loire (Montrichard et Beaugency), Saône-et-Loire (environs de Tournus), Vaucluse (Roaix et Malaucène), Bouches-du-Rhône (Château-renard et Massif de la Sainte-Baume) et Aveyron (environs de Millau).

Originellement, toutes ces souches sont des «souches brutes», obtenues directement par des isolements de routine selon l'un ou l'autre des quatre procédés les plus couramment utilisés: semis multispore (mélange de spores haploïdes), boutures de fragments d'hyménophore (mélange de spores haploïdes et d'hyphes du dicaryon sauvage parental), de fragments de la chair du basidiocarpe ou de la racine du Panicaut infectée naturellement (hyphes du dicaryon sauvage). Par opposition, nous dénommons «souches contrôlées» celles qui résultent de la fusion de deux haplontes issus chacun d'une basidiospore, sauvage ou produite par une «souche brute», en culture.

Cette étude de la variabilité de la fertilité des souches et de la morphologie des basidiocarpes a été réalisée à partir de 206 «souches brutes», qui ont été conduites jusqu'à la fructification complète ou à l'expression de divers blocages. Ces souches provenaient de neuf des dix populations citées (celle de Millau n'étant pas incluse ici), représentées chacune par divers prélèvements réalisés par des semis multispores et, chaque fois que cela a été possible, compte-tenu du matériel de départ, un ou plusieurs types de bouturages.

Deux variables ont donc été introduites simultanément dans ce travail: une variable de populations (origine géographique) et une variable d'échantillonnage au sein de chaque population (modalité d'isolement des souches). Avant d'entreprendre l'étude du comportement des diverses populations, il importait donc de voir, systématiquement, si les modalités de prélèvement des échantillons, c'est-à-dire d'isolement des souches, exerçait ou non une influence sur l'expression de la variabilité du développement basidiocarpique.

Enfin, parmi l'ensemble des données expérimentales, certaines constituent en réalité des répétitions: outre des duplications de «souches brutes» (286

cultures réalisées pour 206 «souches brutes»), il faut tenir compte du fait qu'à partir des basidiocarpes, ou couple basidiocarpe + racine infectée, il a souvent, mais pas toujours, été effectué divers isolements par une ou plusieurs modalités distinctes. On peut alors craindre que le poids qui leur est affecté, dans les données originelles, puisse déformer quelque peu l'analyse; d'autre part, les éliminer constituerait une perte d'information. Pour en tenir compte, sans pour autant leur accorder un poids excessif, nous avons effectué des analyses en utilisant la formule :

$$i = \sum 1 + \frac{1}{2} + \frac{1}{3} + \dots + \frac{1}{n}$$

i étant l'indice affecté à chaque basidiocarpe, ou couple basidiocarpe + racine infectée, compte-tenu des n isolements répétitifs qu'il a fournis. Chaque fois que, parmi ces n répétitions, il existe plusieurs modalités d'isolements ou des extériorisations de comportements distincts le partage est fait proportionnellement aux nombres des répétitions de chaque sous-groupe.

VARIABILITÉ DES TAUX DE FERTILITÉ

Les résultats des essais culturaux concernant les 286 cultures, en données originelles et en données pondérées en fonction des répétitions, sont réunis dans le tableau I dont la simple lecture montre un taux de fertilité beaucoup plus faible dans le cas des semis multispores que dans celui des trois types de bouturages. Il est aisé de le confirmer par un test de χ^2 . Pour les données

Modalités d'isolement	Données originelles			Données pondérées		
	Présence de blocage	Fructifi- cation normale	Total	Présence de blocage	Fructifi- cation normale	Total
Multispore	55	109	164	34,16	52,83	86,99
Chair	4	45	49	1,78	24,70	26,48
Racine	0	21	21			
Hyménoophore	2	50	52	1,26	27,39	28,65
Total	61	225	286	37,20	104,92	142,02

Tab. 1. — Comportement fructifère en fonction des modalités d'isolement des «souches brutes».

originelles, ce test indique une très forte hétérogénéité du comportement fructifère en fonction des modalités d'isolement ($x^2 = 27,53^{**}$). Si l'on effectue alors les comparaisons élémentaires, on constate qu'effectivement les cultures issues des semis multispores se différencient nettement et à la fois de celles qui sont issues des fragments d'hyménophore ($x^2 = 17,90^{**}$), des fragments de chair du basidiocarpe ($x^2 = 12,12^{**}$) et des fragments de racines infectées ($x^2 = 10,01^{**}$). En ce qui concerne les comparaisons élémentaires entre les trois types de bouturages, il n'est pas possible, en raison des faibles taux d'apparition de blocages, de discerner des différences de comportements; le test de x^2 , d'ailleurs, n'est pas applicable en raison des valeurs trop faibles, dans ces comparaisons élémentaires, des taux de blocage calculés à partir des totaux marginaux.

Avec les données pondérées pour les répétitions et en regroupant, pour simplifier, les souches issues des seuls dicaryons sauvages, c'est-à-dire les boutures de fragments de chair et de racines infectées, on retrouve la très forte hétérogénéité de comportements ($x^2 = 19,90^{**}$) et les souches provenant des semis multispores se distinguent encore nettement des souches obtenues par des boutures d'hyménophore ($x^2 = 12,34^{**}$) ou de chair et racines infectées ($x^2 = 9,93^{**}$). Les semis multispores engendrent donc des cultures dont le taux de fertilité, par suite d'un fort accroissement de l'apparition de blocages, est nettement inférieur (0,607 à 0,665 selon que l'on utilise les données originelles ou les données pondérées) à celui des trois autres modes d'isollements (0,945 à 0,951).

Si l'on examine maintenant la variabilité entre des populations d'origines géographiques distinctes, il nous faut traiter séparément celles qui ont été prélevées par des bouturages et celles issues des semis multispores. Pour les premières, les blocages de la fructification sont rares: seules les souches issues de deux stations en ont exprimé; quatre provenaient de Montrichard et deux de Tournus. Ce sont d'ailleurs les deux stations pour lesquelles nous avons pu disposer du plus grand nombre de données concernant des «souches brutes» extraites par des bouturages divers (fragments d'hyménophore, de chair ou de racine); 58 isollements pour Montrichard et 29 pour Tournus, alors qu'il n'a pu en être effectué que 19 pour Malaucène, 14 pour Roaix et deux seulement pour Beaugency; les quatre autres stations (Manche, Finistère, Chateaur-enard et Massif de la Sainte Baume) n'ont pu être représentées que par des semis multispores. On peut donc estimer que, sur la base d'échantillons extraits par des bouturages divers, les taux de fertilité des diverses populations apparaissent très élevés; les «souches brutes» qui ne fructifient pas normalement sont assez rares, leur mise en évidence nécessitant un échantillonnage suffisamment important. Enfin, pour les deux stations dont l'échantillonnage a répondu à cet impératif, les taux de fertilité sont apparus équivalents; $54/58 = 27/29 = 0,931$.

Par contre, chez les «souches brutes» issues de semis multispores (Tab. II), les taux de fertilité sont toujours beaucoup plus faibles. Si l'on met à part les représentants des stations de Beaugency et du Massif de la Sainte-Baume qui

	Données pondérées			Données ramenées en taux		Données originelles
	Présence de blocages	Fructification normale	Total	Présence de blocages	Fructification normale	Nombre de "souches brutes"
Manche	15,613	7,783	23,396	0,667	0,333	(33)
Montrichard	5,053	3,895	8,948	0,565	0,435	(26)
Tournus	3,324	8,730	12,054	0,276	0,724	(25)
Ronix	1,833	5,083	6,916	0,265	0,735	(11)
Finistère	2,463	9,600	12,063	0,204	0,796	(25)
Malaucène	2,833	12,603	15,436	0,184	0,816	(29)

Tab. II. - Comportement fructifère en fonction de l'origine géographique de «souches brutes» issues de semis multispores.

constituent des échantillonnages à effectifs trop faibles (respectivement deux cultures fertiles sur quatre et aucune sur deux), on constate que les proportions des souches qui parviennent à la complète maturité sont relativement faibles chez certaines populations (Manche et Montrichard), nettement plus élevées, presque le double, chez les autres, mais encore nettement inférieures à celles que l'on obtient avec des échantillonnages par bouturages. Seuls les représentants de la station de Châteaurenard ont extériorisé un taux de fertilité de 1,000 mais l'échantillonnage est encore un peu faible (9 cultures) et il est vraisemblable que la non-manifestation de blocages n'y soit que la conséquence d'une insuffisance d'effectifs.

VARIABILITÉ DE L'ASPECT MORPHOLOGIQUE DES BASIDIOCARPES

Parmi les souches qui achèvent le cycle complet, il existe une assez grande variabilité de la morphologie des basidiocarpes. Indépendamment de divers faciès qui apparaissent sporadiquement et irrégulièrement, souvent d'ailleurs sous l'influence de facteurs externes, et de faciès occasionnels que nous regrouperons sous la rubrique «divers» (Pl. II, fig. 6 et Pl. IV, fig. 5 et 6), il est possible de distinguer cinq principaux types morphologiques de basidiocarpes :

Type I (Pl. I, fig. 1 et 2)

- Stipe régulier, cylindrique, le plus souvent inséré au centre du piléus, sauf dans le cas de carpophores en touffe dense, où les piléus de la périphérie sont excentrés.

- Pileus régulier, circulaire, d'abord bombé, puis déprimé, finalement à bord plus ou moins fortement retroussé; de couleur claire, ocracé pâle, à vergetures radiales plus foncées.

- Lames crème pâle, presque blanches, légèrement décurrentes sans former de filets sur le stipe, très rarement anastomosées.

Type II (Pl. II, fig. 1, 3 et 5)

- Stipe régulier, cylindrique à rétréci au sommet, généralement inséré au centre du pileus.

- Pileus régulier, circulaire, d'abord plan légèrement déprimé au centre, puis convexe plan creusé au centre, à marge arrondie (descendante) légèrement cannelée, infundibuliforme très évasée; de couleur claire, ocre pâle roussâtre, marge à festons plus clairs, plus ou moins évidents.

- Lames crème pâle, moyennement décurrentes, mais sans former de filets sur le stipe, anastomoses très rares.

Type III (Pl. I, fig. 3 et 4)

- Stipe fusiforme, rarement long, insertion au pileus généralement excentrique, même chez les exemplaires isolés.

- Pileus d'abord convexe omboné, puis légèrement déprimé, mais toujours omboné au centre, marge rarement retroussée à la fin; le plus souvent irrégulier, entier ou elliptique ou découpé en deux à trois larges lobes; surface parfois localement hérissée de granulations ou de verrues charnues, de couleur foncée, ocracé-brun; marge ornée de festons plus clairs.

- Lames plus foncées que dans les autres types, franchement crème légèrement ocracé; décurrentes et formant souvent des filets plus ou moins anastomosés sur le stipe.

Type IV (Pl. I, fig. 5 et 6)

- Stipe court, tronconique, inséré au centre du pileus.

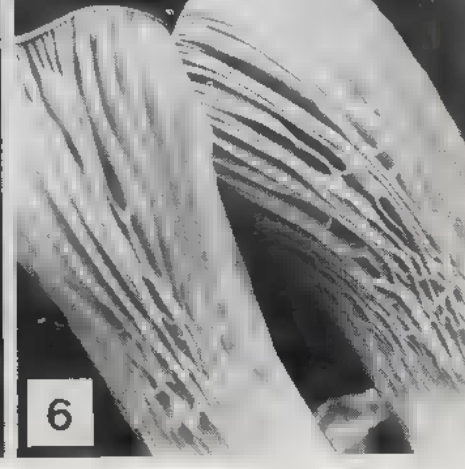
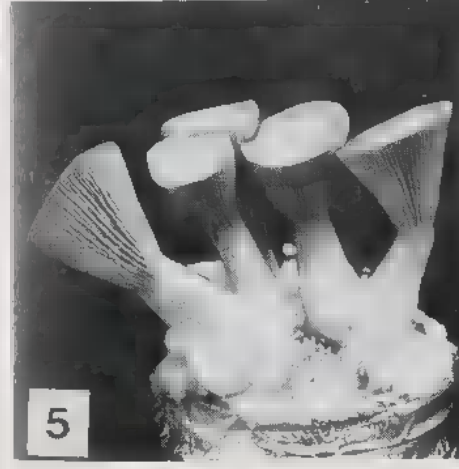
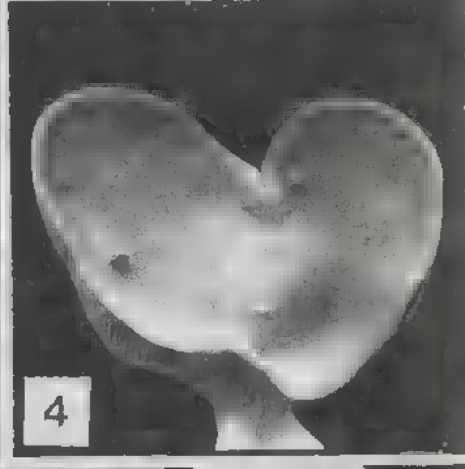
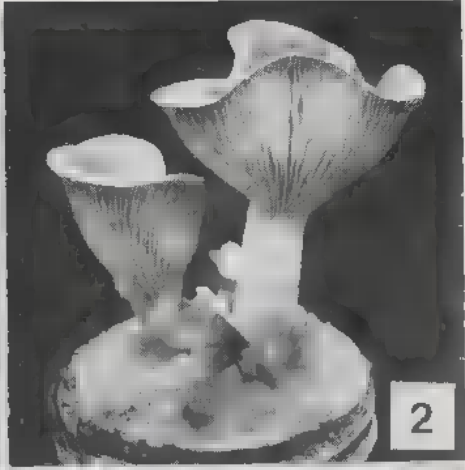
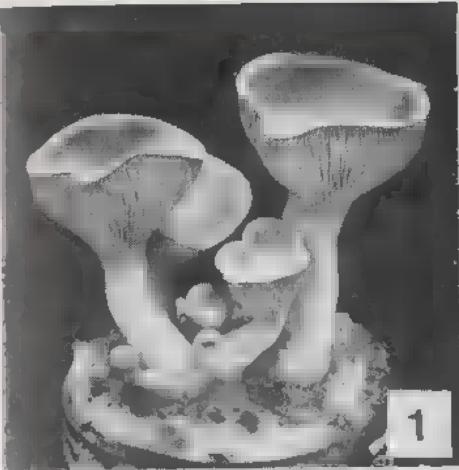
- Pileus étroit, d'abord convexe puis plan omboné, finalement légèrement déprimé omboné; de couleur très claire, crème pâle, presque blanc.

- Lames presque blanches, décurrentes, souvent anastomosées en réseau à la base.

Type V (Pl. II, fig. 2 et 4)

- Anomalies à caractère tératologique fréquentes.

Pl. I - *P. eryngii*. - Type I, (or. env. de Millau). 1: basidiocarpes à pleine maturité; 2: basidiocarpes proches de la décrépitude. - Type III, (or. env. de Roaix). 3: basidiocarpes à pleine maturité; 4: détail de la surface d'un pileus. - Type IV, (or. env. de Malacène). 5: basidiocarpes à pleine maturité; 6: détail de l'hyménophore.



- Stipe court, souvent irrégulier, aplati, cannelé, fascié, éclaté, ramifié; insertion au piléus centrale ou légèrement excentrique.

- Piléus d'abord plan à marge descendante, puis déprimé à marge plus ou moins fortement retroussée; forme souvent irrégulière, parfois divisé en larges lobes; ocre-roussâtre à vergetures radiales plus foncées et très nettes, marge ornée de festons plus clairs; présence fréquente d'hyménophore surnuméraire.

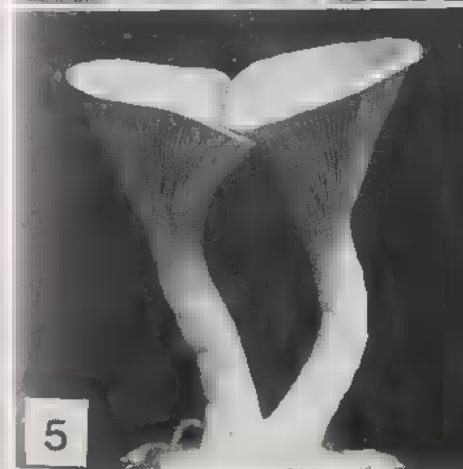
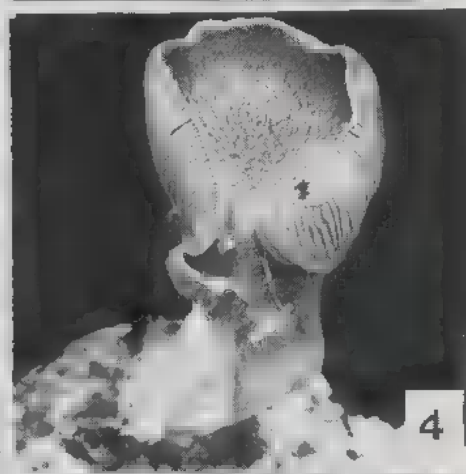
- Lames presque blanches, décurrentes, souvent en long filet sur le stipe; anastomoses rares.

Lorsque les «souches brutes» sont normalement fertiles, il ne semble pas y avoir une influence notable des modalités d'isolement sur la variabilité morphologique. Les résultats de l'étude de 65 de ces souches, provenant de trois populations différentes (Montrichard, Malaucène et Roaix) sont présentés dans le Tableau III (en données pondérées pour les répétitions); on peut y constater que la fréquence d'apparition effective de chaque type morphologique pour chacune des modalités d'isolement (chiffres droits) correspond sensiblement

Modalités d'isolement	Types morphologiques					Total
	Type II	Type III	Type IV	Type V	Divers	
Multispore	6,50 (6,06)	3,50 (3,17)	2,58 (1,81)	2,00 (2,72)	1,75 (1,27)	16,33 (15,03)
Chair	6,00 (6,06)	2,00 (3,17)			1,00 (0,90)	9,00 (10,13)
Racine	9,73 (8,78)				0,00 (0,90)	9,73 (9,68)
Hyménophore	7,50 (7,78)	4,00 (3,17)	0,00 (1,81)	4,00 (2,72)	1,00 (1,27)	16,50 (16,75)
Total	29,73 (28,68)	9,50 (9,51)	2,58 (3,62)	6,00 (5,44)	3,75 (4,34)	51,56 (51,59)

Tab. III. — Répartition des types de fructification en fonction des modalités d'isolement.

Pl. II. - *P. eryngii*. - Type II, (or. env. de Montrichard). 1, 3, 5: basidiocarpes à pleine maturité. - Type V, (or. env. de Malaucène). 2: basidiocarpes proches de la pleine maturité; 4: basidiocarpe avec hyménophore surnuméraire. - Faciès «divers», (or. env. de Châteaurenard). 6: basidiocarpe à chair molle et lames souvent anastomosées dans la vallécule.



à celle que l'on peut déduire (chiffres entre parenthèses) de l'hypothèse nulle supposant, au sein de chaque population et compte tenu de sa propre fréquence d'apparition des types qui y sont représentés, une indépendance totale de la variabilité morphologique par rapport aux modalités d'isolement.

En définitive, les modalités d'échantillonnage influent seulement sur le taux d'apparition des blocages, les semis multispores l'accroissant considérablement par rapport aux divers types de bouturages; par contre, elles ne modifient guère l'expression de la variabilité morphologique. Compte-tenu de cette uniformité de réponse des échantillons, quelles que soient les modalités de leurs isolements, il apparaît que certaines populations extériorisent des comportements homogènes, comme celle de Roaix dont les basidiocarpes, en culture, sont pratiquement toujours de type III, ou même celle de Montrichard dont la plupart des basidiocarpes (0,924) sont de type II, quelques-uns seulement de type

Séries	Racine	Stipe	Piléus	Hyméno- phore	Spores I	Spores II	Spores III	Spores IV
1	■	◆	■	■	■	■	◆	◆
2	■	◆	■	◆	■	○	○	■
3	■		■	■	◆	■	◆	◆
4	◆	■	◆	■	■	■	◆	■
5		■	■	◆				■
6		■	◆	◆	◆			
7		■	○	■	○			
8		■		■	■			
9		◆		◆	■			
10				■	◆			
11					○			
12					■			
13					■			

Tab. IV. - ○ : blocage végétatif. ◊ : blocage au niveau de la caryogamie. ■ : blocage ■■ cours de méiose. ◆ : fructification normale.

«Divers». D'autres populations, au contraire, manifestent une plus grande variabilité, comme celle de Malaucène qui, géographiquement proche de la station de Roaix, ne produit pas le type III, mais un mélange des types II (0,345), IV (0,179), V (0,366) et quelques formes diverses.

Ces conclusions ont pu être confortées par une étude portant sur la population de Tournus où nous avons analysé les comportements de diverses «souches brutes» issues de treize basidiocarpes ou ensembles «racine infectée + basidiocarpe développé sur cette racine», à l'aide de séries d'échantillonnages aussi complètes que le permettait l'état du matériel d'origine : boutures de tissu de la racine infectée, de chair du stipe et du pileus, de fragments d'hyménophore, ainsi que semis multispores réalisés à partir de quatre dépôts successifs : I: spores déposées au cours des 14 premières heures de sporulation en laboratoire; II: spores déposées de la 15e à la 19e heure; III: spores déposées de la 20e à la 23e heure; IV: spores déposées de la 24e à la 40e heure (Tableau IV). Ces essais ont bien confirmé l'accroissement du taux d'apparition de blocages chez les semis multispores ($4/25 = 0,160$ contre $2/29 = 0,069$ chez les bouturages), mais ils font également ressortir une homogénéité de comportement chez les «souches brutes» issues d'une même entité, «basidiocarpe» ou «ensemble racine + basidiocarpe» (Pl. III, fig. 1 à 5); la série n° 7 montre le blocage en cours de méiose chez la plupart des souches, qu'elles soient obtenues par bouturages ou semis multispores (Pl. IV, fig. 1 à 4); la série n° 2 a montré systématiquement, et quel que soit le mode d'échantillonnage, un retard à la fructification associé à une baisse de la fertilité.

LE DÉVELOPPEMENT BASIDIOCARPIQUE ET SES PRINCIPAUX BLOCAGES EN CULTURE

Le développement des basidiocarpes du *P. eryngii* se réalise selon des processus relevant de la carpogénèse «diffuse» telle qu'elle a été définie par REJNDERS (1963): schématiquement, les hyphes s'agrègent plus ou moins parallèlement en un stipe cylindrique, puis divergent pour constituer le pileus à croissance marginale. Toutefois, comme nous l'avons vu, si les processus de la fructification se déroulent complètement chez la plupart des «souches brutes», qui produisent alors des basidiocarpes lamellés et fertiles, certaines de ces souches n'achèvent pas leur cycle complet.

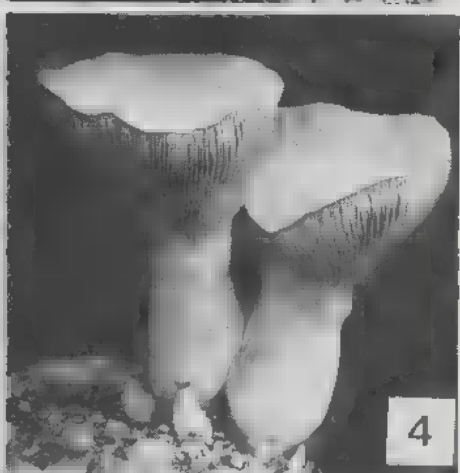
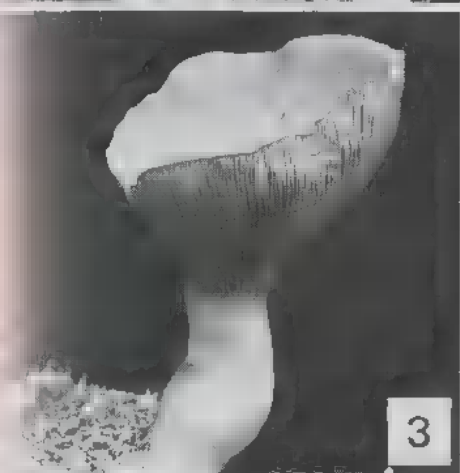
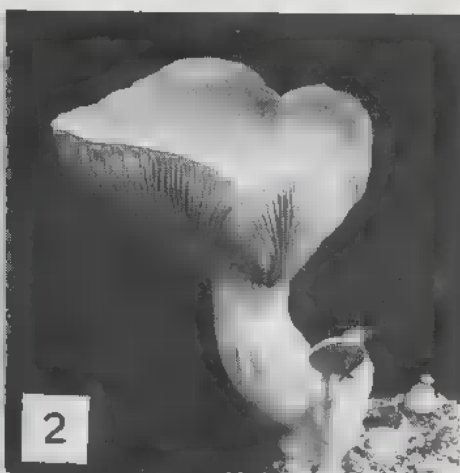
En culture de laboratoire, après envahissement complet du milieu par le mycélium dicaryotique végétatif, ouverture des bocaux et mise en place du gobetage de vermiculite (cf. CAILLEUX et DIOP, 1976), le premier indice macroscopique de l'induction aux processus fructifères est la formation superficielle de petits flocons assez nombreux et mal définis: c'est le stade de la «nouaison». Certaines «souches brutes» restent totalement stériles, n'extériorisant, même dans les conditions habituellement favorables à la poursuite normale de la fructification, aucun processus de différenciation basidiocarpique ou, au maximum, évoluent seulement jusqu'à un faciès rappelant la «nouaison»

(Pl. V, fig. 1); puis, tout développement cesse. Ces blocages du cycle peuvent résulter de causes diverses, que nous n'avons pas cherché à préciser ici; nous les avons simplement regroupés sous l'expression de « blocages végétatifs ».

Peu après le stade de la « nouaison », les primordiums apparaissent à la surface de la culture, compacts, nombreux, isolés ou en groupes; d'abord globuleux, ils s'allongent et s'étoffent. Chez les cultures effectuées à 14-18°C avec des éclairagements de 12 h par jour, quatre jours avant la formation des premières basidiospores (stade J-4), l'ébauche du pileus devient nettement visible mais encore sans traces de lames, ou celles-ci commençant à peine à s'ébaucher (Pl. V, fig. 2). Le jeune primordium contient alors uniquement des filaments bouclés et binucléés. Chez diverses « souches brutes », l'induction à la fructification peut se réaliser de manière apparemment normale, avec formation de primordiums comparables à ceux des souches pleinement fertiles, et cela jusqu'au stade J-4 où leur développement cesse brutalement et définitivement. Chez certaines, au moins, de ces souches, la structure reste banale jusqu'à ce stade J-4, avec des hyphes bouclées et binucléées. Le lendemain (stade J-3), le primordium poursuit sa croissance, étant toujours constitué de filaments bouclés et binucléés, mais les apex de certains d'entre eux se renflent, et on peut alors y observer les premières fusions nucléaires. A ce stade apparaissent çà et là de rares cystides. Chez les primordiums des souches bloquées au stade morphologique J-4, les articles des hyphes ont pris des longueurs variables, restant binucléés et alors fins, ou devenant plurinucléés et larges. Dans les deux cas, ils émettent souvent des diverticules latéraux à structure anormale et on n'observe aucun renflement pré-caryogamique des apex. N'ayant encore observé aucune figure de caryogamie dans les primordiums affectés par cet arrêt total de la croissance, nous désignons ce dernier par le terme de « blocage au niveau de la caryogamie », sans que cela n'implique a priori de relation de cause à effet.

Au stade J-2, le pileus est encore enroulé, mais avec des lames déjà bien développées, sur lesquelles on retrouve un mélange des mêmes éléments que précédemment, associés à des figures de méiose I allant jusqu'au pachytène; les cystides, pour leur part, sont déjà abondantes. A ce stade morphologique, certaines souches extériorisent un arrêt prématuré des processus de développement du seul pileus, alors que le stipe poursuit sa croissance (Pl. V, fig. 3 et 4). Ce sont les « blocages en cours de méiose », qui n'inhibent pas complètement la carpogénèse, mais vont conduire à des basidiocarpes anormaux, à pileus avorté et, pour la plupart, stériles, à l'extrémité d'un stipe parfois relativement long.

Pl. III. - *P. eryngii*. - 1 à 5: souches originaires des environs de Tournus, faciès homogène de la série n° 4, souches issues de: 1) bouturage de racine infectée, 2) bouturage de la chair du chapeau, 3) bouturage de l'hyménophore, 4) semis multispore I, 5) semis multispore III. 6: basidiocarpe sauvage « in situ » (or. env. de Montrichard).



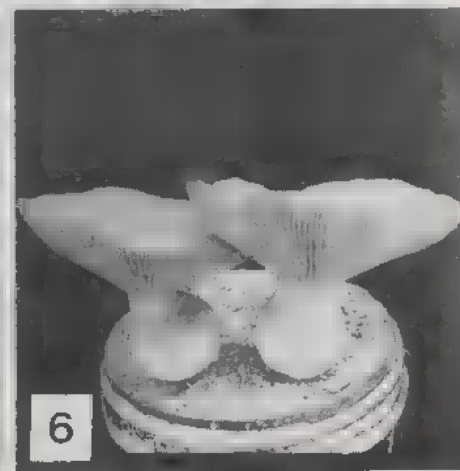
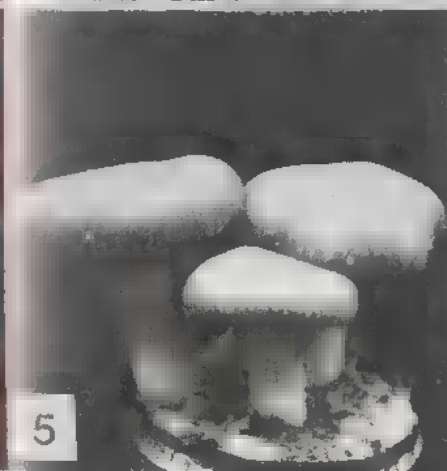
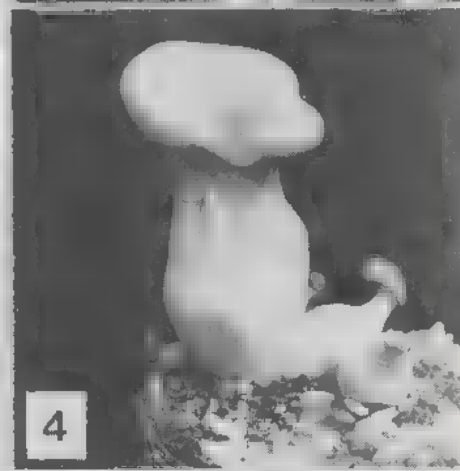
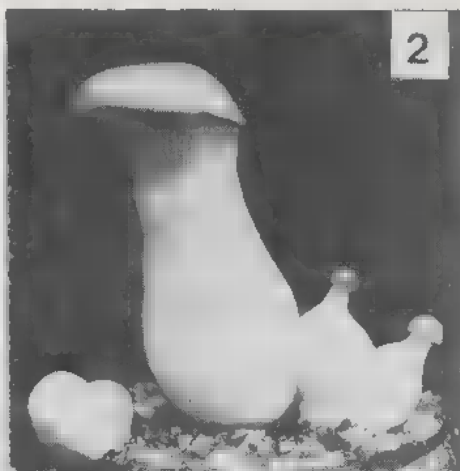
Au stade J-1, le piléus a déjà commencé à se dérouler; les figures de méiose les plus avancées correspondent aux débuts de la deuxième division de méiose, mais elles restent environnées de toutes les figures précédentes, y compris les simples renflements de l'apex binucléés. Enfin, à J, le piléus est quasiment adulte, bien que n'ayant pas encore atteint sa taille maximale, avec des figures allant jusqu'aux fins de méiose II et à la formation des premières basidiospores, encore assez rares: l'ensemble est toujours associé à toutes les figures précédentes. Passé ce stade, le basidiocarpe va poursuivre encore sa croissance pendant plusieurs jours, jusqu'à ce qu'il ait atteint ses dimensions maximales, et cela avec des apparitions quotidiennes de nouvelles figures de méiose.

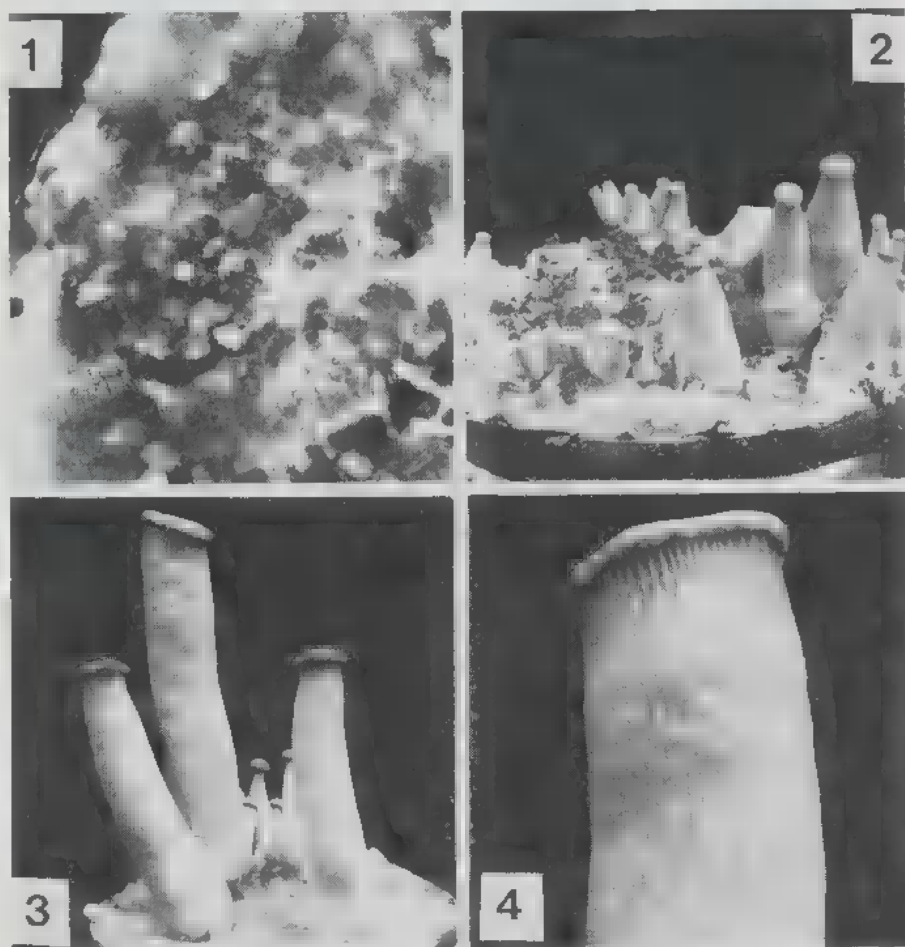
Sans nous attarder plus longtemps sur la description des événements méiotiques, que nous développerons par ailleurs et que nous n'évoquons ici qu'à titre de repères chronologiques permettant de situer les manifestations des principaux blocages des processus de la fructification, il est aisé de constater que, chez le *P. eryngii*, les événements méiotiques sont «diffus», comme le sont les autres processus ontogéniques du basidiocarpe, et non plus ou moins synchrones et regroupés à des stades précis du développement comme on l'observe chez des champignons à carpogénèse «concentrée» tels que les Coprins (PRÉVOST, 1962; LU, 1967; MANACHERE, 1978; etc.).

Origine des souches	Blocage végétatif	Blocage au niveau de la caryogamie	Blocage en cours de méiose	Fructification normale	Total
Manche	0,283	0,160	0,224	0,333	1,000
Montrichard	0,022	0,321	0,222	0,435	1,000
Tournus	0,031	0,081	0,164	0,724	1,000
Roaix	0	0	0,265	0,735	1,000
Finistère	0	0,052	0,152	0,796	1,000
Maleucène	0	0,065	0,119	0,816	1,000

Tab. V. - Taux d'apparition des divers blocages en fonction de l'origine de «souches brutes» issues de semis multispores (données pondérées ramenées en taux).

Pl. IV. - *P. eryngii*. - 1 à 4: souches originaires des environs de Tournus, série n° 7, manifestations de blocage en cours de méiose, souches issues de : 1) bouturage de l'hyménophore, 2) bouturage de la chair du chapeau, 3) bouturage de la chair du pied, 4) semis multispore. 5 et 6 : Faciès «divers», souches issues de deux semis multispores effectués à partir de la même sporée (or. Finistère).





Pl. V. - *P. eryngii*. - Stades morphologiques de manifestation des blocages. 1: à la «nouaison». 2: au niveau de la caryogamie. 3: en cours de méiose. 4: détail de 3.

Examinons maintenant la variabilité de l'apparition des divers types de blocages au sein de nos quelques populations. Dans le cas des «souches brutes» issues de bouturages divers, nous avons vu que six seulement étaient affectées de blocages. Quatre sont originaires de Montrichard, deux d'entre elles manifestent le blocage au niveau de la caryogamie, les deux autres le blocage en cours de méiose, ce qui représente pour ces deux blocages des taux de 0,035 parmi les représentants de cette station. Les deux dernières souches non fructifères sont encore affectées du blocage en cours de méiose et proviennent de Tournus.

station qui extériorise alors un taux d'apparition de ce blocage un peu plus élevé (0,069) mais dont la différence, par rapport à Montrichard ne peut être tenue pour significative compte-tenu des dimensions des échantillonnages.

Chez les souches issues de semis multispores pour lesquels nous avons disposé d'un échantillonnage suffisant (Tab. V), les taux d'apparition des divers blocages sont beaucoup plus variables. Un certain nombre d'entre eux, échelonnés de 0,022 à 0,083 ne peuvent pas être tenus pour effectivement différents de ceux observés dans le cas des échantillonnages par bouturages divers. Il en est de même pour les cas où aucun blocage ne s'est manifesté, les dimensions des échantillons ne permettant pas de conclure à une absence de possibilité d'expression des blocages concernés. En définitive, si le semis multispore réduit systématiquement le taux de fertilité, il ne le fait en accroissant les taux de blocage chez toutes les populations étudiées que dans le cas du blocage en cours de méiose. L'accroissement des taux du blocage au niveau de la caryogamie n'apparaît nettement que chez les représentants de deux populations (Manche et Montrichard) et celui des blocages végétatifs chez une seule (Manche). La variabilité de l'intervention du semis multispore au niveau de ces deux types de blocages pourrait d'ailleurs être la seule cause de l'abaissement des valeurs des taux de fertilité des souches originaires de ces deux stations par rapport aux taux extériorisés par les souches extraites des quatre autres (Tournus, Roaix, Malaucène et Finistère).

Enfin, si le semis multispore amplifie dans certains cas la manifestation des blocages, il ne les induit certainement pas. Nous avons vu que deux d'entre eux apparaissent à de faibles taux chez les souches obtenues par des bouturages divers lorsque l'échantillonnage est suffisamment important. Il est, de plus, intéressant de constater que quatre des six blocages que nous avons ainsi pu observer sont des blocages en cours de méiose, c'est-à-dire les plus universellement représentés chez les semis multispores et que les deux autres sont des blocages au niveau de la caryogamie chez deux «souches brutes» originaires de Montrichard, station qui a produit, et de beaucoup, le plus grand nombre de blocages de ce type en semis multispores.

DISCUSSION

Parmi les hypothèses simples capables de rendre compte du comportement des souches issues de semis multispores par rapport à celui des souches provenant de boutures, on peut penser à une intervention de recombinaisons méiotiques lors de la formation des basidiospores, utilisées pour constituer l'échantillonnage. Toutefois, les boutures d'hyménophore, contenant un mélange d'hyphes parentales et de basidiospores, se comportent pratiquement comme les boutures d'hyphes parentales seules (fragments de chair du basidiocarpe ou de racine infectée), et non comme les semis multispores. Si l'accroissement des taux d'apparition des blocages est le résultat de recombinaisons, cela implique alors une élimination quasi-systématique des noyaux recombinants

apportés par les basidiospores, chez les boutures d'hyménophores.

Une telle élimination pourrait résulter d'une inhibition de la germination des basidiospores par le mycélium dicaryotique parental actif, comme cela s'observe fréquemment chez divers champignons. Toutefois, lors du repiquage, les hyphes bouturées ne reprennent pas immédiatement leur croissance et, si des spores sont présentes sur les fragments mycéliens, l'expérience montre qu'elles peuvent germer durant cette période de latence. Ces inhibitions peuvent probablement jouer un rôle dans une telle élimination, mais elles ne permettent pas, à elles seules, de rendre compte du comportement des boutures d'hyménium.

Lorsque plusieurs basidiospores sont mises en présence, elles germent et les filaments auxquels elles donnent naissance établissent entre eux de nombreuses anastomoses. On se trouve devant un phénomène de Buller complexe dans lequel s'effectue une élimination de la plupart des noyaux avec sélection finale d'un seul couple. Selon PRÉVOST (1962), l'élément déterminant de la sélection des noyaux, dans le phénomène de Buller, pourrait être le degré d'hétérozygotie globale (sur l'ensemble des génomes ou, au moins, de systèmes polygéniques impliquant de nombreux gènes majeurs) : le couple sélectionné serait celui pour lequel les deux noyaux possèdent la plus grande hétérozygotie relative.

Dans la descendance post-méiotique d'un dicaryon, les couples de recombinants possibles ne peuvent être hétérozygotes que pour les facteurs qui sont déjà dans cet état chez le couple de noyaux parentaux : leurs degrés d'hétérozygotie réciproques, ou ceux de chacun d'entre eux par rapport à l'un ou l'autre des types parentaux (le dicaryon parental existant en nombre relativement important chez la bouture d'hyménophore) ne pourront être qu'inférieurs ou, au mieux, égaux à celui du couple parental. On peut calculer le nombre théorique de couple de noyaux qui, chez N spores issues d'un dicaryon hétérozygote pour F facteurs à ségrégation indépendante, posséderont un taux d'hétérozygotie égal à celui du dicaryon parental ; la probabilité d'obtention de tels couples est de :

$$\frac{2^F}{2} \cdot \left[\frac{N}{2^F} \right]^2 \cdot \frac{2(N-2)!}{N!} = \frac{N}{2^F \cdot (N-1)}$$

L'introduction supplémentaire de tout facteur non indépendant, lié à l'un quelconque des F facteurs précédents avec un taux de recombinaison k , modifiant cette probabilité de $[k^2 + (1-k)^2]$, un système de $P = F + L$ facteurs réunis en F groupes de liaisons produira des couples de noyaux possédant le même degré d'hétérozygotie que le couple parental avec une probabilité de :

$$\frac{N}{2^F \cdot (N-1)} [k_1^2 + (1-k_1)^2] [k_2^2 + (1-k_2)^2] \dots [k_L^2 + (1-k_L)^2]$$

k_1, k_2, k_L , étant les taux de recombinaison respectifs de chacun des L facteurs par rapport à celui des F facteurs indépendants auquel il est lié.

On peut imaginer, à titre d'exemple, un système de 14 facteurs répartis deux à deux en sept groupes de liaisons (le nombre chromosomique du *P. eryngii* étant de l'ordre 11) avec des taux de recombinaison respectifs de 0,08, 0,12, 0,21, 0,25, 0,31, 0,35 et 0,40. La probabilité d'obtention de couples d'homocaryons à degré d'hétérozygotie égal à celui du cycle parental est alors de 3,5 pour 10000 spores; on voit facilement qu'elle devient très faible dès que les facteurs impliqués dans le phénomène deviennent nombreux, ce qui est précisément le cas du mécanisme proposé par PRÉVOST. En réalité, par rapport à ce modèle bâti sur des confrontations bisporiques, les fusions multiples suivies des sélections de noyaux qu'on observe chez le semis multispore tendent à augmenter la fréquence de constitution de tels couples. Au contraire, chez le bouturage de fragment d'hyménophore, les basidiospores ne sont pas seules mais disséminées au sein d'une masse relativement importante d'hyphes du dicaryon parental. Les chances de fusion d'un homocaryon recombinant avec un partenaire suffisamment hétérozygote par rapport à lui pour que la conservation de son noyau soit assurée deviennent faibles au regard de celles d'une fusion avec le type parental. Ce dernier éliminera alors le noyau recombinant dont le degré d'hétérozygotie par rapport aux deux noyaux parentaux est moindre que celui existant entre eux. Si l'on ajoute l'avantage sélectif que constitue le nombre des cellules parentales par rapport à celui de chaque couple éventuellement compétitif qui aurait pu se former, on conçoit que le bouturage d'hyménophore puisse tendre à conserver le type parental. Compte-tenu des dimensions de nos échantillonnages, il extériorise un comportement pratique.

+ Formation de boucles après confrontation
 - Pas de boucles après confrontation
 ■ Fructification normale
 ⊙ Blocage au niveau de la caryogamie
 ○ Blocage végétatif

+	+	+	-	-		618
+	+	+	-			623
+	+	+				621
-	-		*	○	⊙	619
-			*	○	⊙	620
			○	*	⊙	611
						611 620 619 621 623 618
			A_2B_2			
			A_1B_1			

} A_1B_1
} A_2B_2

Tab. VI. - Comportement fructifère des neuf «souches contrôlées» issues des confrontations de six homocaryons appartenant à deux groupes de compatibilité complémentaire.

ment identique à celui des boutures de chair ou de racines infectées qui, le plus souvent, ne reproduisent que ce type parental.

Le mécanisme de sélection des noyaux proposé par PRÉVOST permettant d'expliquer l'élimination presque systématique des noyaux recombinants chez les boutures d'hyménophore, on ne peut pas rejeter l'hypothèse d'une intervention des recombinaisons méiotiques dans le comportement singulier des semis multispores. Mais, dans ce cas, les modalités de cette intervention ne sont certainement pas simples. A priori, les fréquences d'apparition des blocages lorsque le semis multispore semble intervenir (0,283 pour le blocage végétatif, 0,160 et 0,321 pour celui au niveau de la caryogamie, six valeurs échelonnées entre 0,119 et 0,265 pour celui en cours de méiose) ne sont pas trop éloignées, dans un échantillonnage comme celui-ci, du taux théorique de manifestation de phénotypes monogéniques récessifs dans la descendance d'un couple de noyaux parentaux hétérozygotes pour ce caractère. L'étude de «souches contrôlées», qui est en cours, ne permet pas de retenir actuellement cette hypothèse : à titre d'exemple, le tableau VI présente les comportements de neuf «souches contrôlées» issues de la population de Millau : aucun des deux blocages extériorisés ici n'apparaît avec une répartition compatible avec le schéma d'une simple nécessité monogénique.

BIBLIOGRAPHIE

- CAILLEUX R. et DIOP A., 1976 - Recherches préliminaires sur la fructification en culture du *Pleurotus eryngii* (Fr. ex DC.) Quél. *Rev. de Mycol.* 40 : 365-388.
- CAILLEUX R. et DIOP A., 1978 - La fructification du *Pleurotus eryngii* en conditions de culture non stériles et ses incidences pratiques. *Rev. de Mycol.* 42 : 1-11.
- LU B.C., 1967 - Meiosis in *Coprinus lagopus* : a comparative study with light and electron microscopy. *J. Cell. Sci.* 2 : 529-536.
- MANACHERÉ G., 1978 - Morphogenèse des carpophores de Basidiomycètes supérieurs. Connaissances actuelles. *Rev. de Mycol.* 42 : 191-252.
- PRÉVOST G., 1962 - Étude génétique d'un Basidiomycète : *Coprinus radiatus* Fr. ex Bolt. *Ann. Sc. Nat., Bot. et Biol. Vég.*, 12e Sér., 3 : 425-613.
- REIJNDERS A.F.M., 1963 - *Les problèmes de développement des carpophores des Agaricales et de quelques groupes voisins.* Den Haag, Junk, 412 p.
- TURMEL J.M., 1948 - Répartition géographique des *Eryngium*. I. Ancien Monde. *Bull. du Muséum Nat. Hist. Nat.*, 2e sér., 20 : 395-401.

Nous remercions ici nos collègues R. ASTIC, A. DENIS, J.C. DONADINI, G. FORTOUL, R. FRANQUET, G. GARNIER, C. et M. MOREAU, J. NICOT, L. RIOUSSET et L. SIGNORET qui nous ont aimablement communiqué des sporées ou des échantillons vivants de *Pleurotes*.